

氏名	藤 利 彰 彦
授与した学位	博 士
専攻分野の名称	理 学
学位授与番号	博甲第2432号
学位授与の日付	平成14年 9月30日
学位授与の要件	自然科学研究科生物資源科学専攻 (学位規則第4条第1項該当)
学位論文の題目	Studies on the Structure of the Extrinsic 33 kDa Protein in Oxygen-evolving Photosystem II Complex. (酸素発生光化学系II複合体の表在性33kDa蛋白質の構造に関する研究)
論文審査委員	教授 山本 泰 教授 高橋裕一郎 教授 鎌田 堯

学 位 論 文 内 容 の 要 旨

表在性 33kDa 蛋白質は、酸素発生に必須なマンガングラスターの安定化と機能保持に重要な役割を持つ蛋白質である。この蛋白質は結晶化が困難な蛋白質であり、その構造については不明な点が多く残っている。本論文では、2つの異なった観点から 33 kDa 蛋白質の構造について解析し、以下の知見を得た。

(1) 光化学系 II 複合体 (PSII) をトリプシン処理すると、33 kDa 蛋白質が結合していない PSII のみ、PSII 膜蛋白質の1種である 43kDa クロロフィル結合蛋白質 (CP43) のループ E に存在する Arg357 とシトクロム b_{559} (α) の C 末端側が特異的に切断されることが判明した。これは、これらの部位が 33 kDa 蛋白質との相互作用部位であることを示す最初の報告である。

(2) 異なる6種の植物から単離した 33 kDa 蛋白質をキモトリプシンと V8 プロテアーゼで処理した時の切断部位を決定し比較した。その結果、プロテアーゼ切断部位から、①ラン色細菌・紅藻タイプ (156-195 番目の残基間で切断される) ②高等植物タイプ (16-19 残基間で切断される) ③ユーグレナ・緑藻タイプ (ラン色細菌と高等植物の両タイプの残基で切断される) の3つの大きなグループに分類されることが判明した。切断部位のアミノ酸残基は殆ど種を越えて保存されているので、実際にプロテアーゼが作用して切断される部位が異なることは、植物種により 33kDa 蛋白質の高次構造が異なることを示している。なお、33kDa 蛋白質の構造が異なることを系統的に示したのは、本論文が最初である。

論文審査結果の要旨

光化学系II の表在性33kDa蛋白質は光合成の酸素発生に必須の蛋白質として今から約20年前に同定、単離されたが、この蛋白質の光化学系II での存在状態および構造に関する解析はあまり進んでいなかった。本研究では、膜表在性33kDa蛋白質の光化学系II への結合部位と蛋白質の構造をプロテアーゼを用いた光化学系II 膜および33 kDa蛋白質の限定分解の手法で解析した。研究内容は2部に分かれる。初めの研究では、33kDa蛋白質が結合した光化学系II 膜と結合していない膜 でのトリプシン消化の比較実験から、33kDa蛋白質が光化学系II のアンテナクロロフィル結合蛋白質CP43に結合していること、そしてその結合部位がCP43のルーメンに露出したループE上にあることを具体的に明らかにした。続いて、後半の研究では、ラン色細菌、紅藻、ユーグレナ、緑藻、高等植物のそれぞれの33kDa蛋白質をプロテアーゼで処理し、その分解パターンの違いから、33kDa蛋白質が(1)ラン色細菌・紅藻、(2)ユーグレナ・緑藻、(3)高等植物の3つのタイプに分類出来ることを示した。この蛋白質のプロテアーゼによる分解の違いはプロテアーゼの基質となる33kDa蛋白質のlocalな構造が光合成生物種によって異なることを意味している。プロテアーゼによる切断部位周辺のアミノ酸配列は異なる種由来の33kDa蛋白質で保存されているので、この結果は、33kDa蛋白質の高次構造の違いを反映しているといえる。

33kDa蛋白質は構造的に不安定なためX線結晶解析などが未だ成功しておらず、その構造解析は容易ではない。本研究は、プロテアーゼによる限定分解の手法をきわめて有効に用いて、33kDa蛋白質の存在状態と構造を明らかにしたもので、当該分野への寄与は大きく、学位に十分値すると判定する。